

Tab. 2  
Cd(II)-Werte im Serum und Urin  
Serum- und Urin-Werte stammen nicht vom gleichen Probanden

Nr.	Serum [ $\mu\text{g}$ 100 ml Cd(II)]	Urin [ $\mu\text{g}$ Cd(II)/Tag]	Urinmenge [ml]
1	0,24	0,73	2200
2	0,32	1,26	870
3	0,16	1,34	1200
4	0,47	1,57	1800
5	0,16	0,34	800
6	0,22	0,58	730
7	0,23	0,77	1200
8	0,25	0,54	850
9	0,40	1,07	1920
10	0,92	1,02	1455
11	0,12	1,25	1120
12	0,90	0,57	1250
13	0,18	0,99	1270
14	0,22	1,33	1680
15	0,18	1,31	940

Wir konnten somit die von BUTT (6) gemessenen hohen Cd(II)-Werte im Serum (40  $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ ) nicht bestätigen. Die Angaben von KLAUS (7) (4  $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ ) und PULIDO und Mitarbeiter (3) (1  $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ ) beziehen sich nur auf Einzelproben.

Die Werte unserer Harnanalysen stimmen etwa mit denen spektrographisch von IMBUS (8) ermittelten überein (1,15  $\mu\text{g}/\text{l}$ ); sie liegen aber wesentlich unter denen von PULIDO (3), KLAUS (7), SMITH (9) sowie PERRY und PERRY (10). Angesichts der stark wechselnden Harn-tagesmengen erscheinen uns die Angaben als Konzentrationen unzuverlässig. Wir beziehen deshalb die Cd(II)-Ausscheidung auf den 24-Stdn.-Urin.

### Literatur

1. TIPTON, J. H., in: Metall-Binding in Medicine, S. 27, hrsg. von M. J. SEVEN, J. B. Lippincott Co., Philadelphia (1960). — 2. SCHROEDER, H. A., J. chron. Dis. 18, 647 (1965). — 3. PULIDO, P., K. FUWA und B. L. VALLEE, Analyt. Biochem. (New York) 14, 393 (1966). — 4. LEHNERT, G., und K. H. SCHALLER, Med. Welt 18, 1131 (1967). — 5. WILLIS, J. B., Analytic. Chem. 34, 614 (1962).

— 6. BUTT, E. M., Arch. Environ. Health 8, 60 (1964). — 7. KLAUS, R., diese Z. 4, 299 (1966). — 8. IMBUS, H. R., Arch. Environ. Health 6, 112 (1963). — 9. SMITH, J. C. und J. E. KENCH, Brit. J. industr. Med. 14, 240 (1957). — 10. PERRY, H. M. jr. und E. F. PERRY, J. Clin. Invest. 38, 1452 (1959).

Dr. med. G. Lehnert  
852 Erlangen, Schillerstr. 25

## Photometrische Mikromethode für die komplexometrische Titration von Calcium

Von R. QUICKER und H.-J. DULCE

Aus dem Institut für Angewandte Physiologische Chemie und Klinische Chemie der Freien Universität Berlin  
(Direktor: Prof. Dr. H.-J. Dulce)

(Eingegangen am 19. Mai 1967)

Es wird eine automatische Calciumtitration mit Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) und Ammoniumpurpurat als Indikator in stark alkalischen Medium für einen Bereich von 2–15  $\mu\text{g}$  Calcium pro Ansatz angegeben. Der maximale Fehler der Einzelbestimmung beträgt 0,13  $\mu\text{g}$ , der mittlere Fehler im Bereich von 6–15  $\mu\text{g}$  Calcium pro Ansatz etwa 1,5%.

A method is reported for the automatic titration of calcium with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and ammonium purpurate as indicator in strongly alkaline medium. The concentration range is 2–15  $\mu\text{g}$  calcium per sample. The maximum error of a single determination is 0.13  $\mu\text{g}$ ; the average error in the range 6–15  $\mu\text{g}$  calcium per sample is about 1.5%.

Die manganometrische Bestimmung des Calciums nach Fällung als Oxalat (1) war früher die Standardmethode für die Untersuchungen in biologischen Flüssigkeiten, erforderte aber größere Serummengen und sorgfältiges Arbeiten. Sie wurde abgelöst durch die komplexometrische Methode nach SCHWARZENBACH (2) und ELLIOTT (3). Die Schwierigkeit dieser Methode ist die exakte Endpunktbestimmung.

FALES (4), KIBRICK (5) und SIEGMUND und DULCE (6) erarbeiteten deshalb eine Mikromethode für die komplexometrische Bestimmung mit 0,1 ml Untersuchungs-lösung und photometrischer Endpunktanzeige. Für Serienbestimmungen ist sie geeignet. Es müssen aber die Titrationskurven gezeichnet werden. Wir haben jetzt für diese Mikromethode die Titration und Meßwertregistrierung automatisiert. Weiterhin wurde die Methode durch Stabilisierung des Indikators und Anwendung magnetischer Rührung verbessert. COPP (7) hat kürzlich eine ähnliche Mikromethode für

Calciumbestimmungen angegeben, bei der das Mischen mit einem normalen Rührer vorgenommen wurde. Dies hat den Nachteil, daß die Oberfläche der Lösung nicht ruhig bleibt, die Photometeranzeige schwankt und die automatische Registrierung ungenau wird.

### Methodik

#### Prinzip

Calciummurexid (rot) besitzt im stark alkalischen Medium pH > 12 eine vom freien Murexid (blauviolett) unterschiedliche Farbe. Der Äquivalenzpunkt der Titration ist visuell schlecht, photometrisch gut bestimmbar (8, 9, 10).

Die Absorptionsspektren von Murexid und seinem Calciumchelate (molare Extinktion  $\epsilon$  ( $\text{cm}^2/\text{Mol}$ ) als Funktion von  $\lambda$  aufgetragen) zeigt Abbildung 1 (nach 10).

Die Differenz der Absorptionswerte erreicht bei 480 und 570 nm ihr Maximum. Der Wellenlängenbereich um 480 und 570 nm ist deshalb für die photometrische Endpunktbestimmung besonders geeignet.

Für eine scharfe Endpunktsbestimmung sind nach FORTUIN und Mitarbeitern (11) noch folgende Bedingungen entscheidend:

Die Komplexbildungskonstante der Titrsubstanz mit Calcium soll sehr viel größer als die der Indikatorsubstanz sein. Als Faustregel gilt, daß die Differenz der Logarithmen beider Größen mindestens 4 sein soll. Bei pH-Werten  $> 12,5$  ist die Differenz zwischen beiden Größen ausreichend. Ferner soll die Komplexbildungskonstante des Indikators und die Metallionenkonzentration möglichst groß, die Indikatorkonzentration dagegen möglichst klein sein.

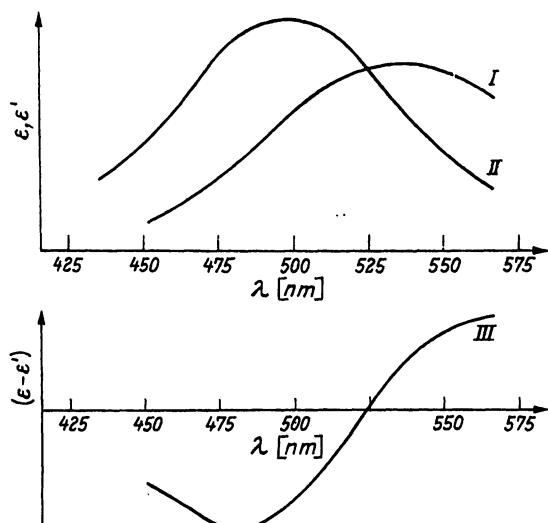


Abb. 1

Absorptionsspektrum von Murexid (I) und seinem Calciumchelate (II) sowie deren Differenzspektrum (III)

#### Reagenzlösungen

Zum Ansetzen der Reagenzlösungen verwendeten wir dest. Wasser, das aus einer Quarzapparatur nochmals redestilliert wurde. Wir konnten damit den Leerwert sehr klein halten.

#### Calciumstandard

49,9 mg Calciumcarbonat p. a. der Fa. Merck wurden in 10 ml HCl gelöst und die Lösung auf 200 ml aufgefüllt. Die Substanz wurde vorher bei  $100^\circ$  getrocknet, um Spuren von Feuchtigkeit zu entfernen. Die Lösung enthält 10 mg Calciumionen pro 100 ml Lösung. Durch entsprechende Verdünnung werden daraus die Eichlösungen mit 2 bis 8 mg Calciumionen pro 100 ml hergestellt.

#### Murexid

15 mg Murexid der Fa. Merck wurden in 25 ml Wasser gelöst und zur Stabilisierung der Lösung 25 ml 1,2-Propylenglykol zugesetzt. Die Murexidlösung wurde jeden Tag frisch hergestellt. Veränderungen der Indikatorlösung innerhalb eines Tages wurden nicht festgestellt.

#### EDTA

Als Titerlösung verwendeten wir eine 2,5 mm Lösung des Dinatriumsalzes der Äthylendiamintetraessigsäure (Titrplex III). 1,861 g Titrplex III wurden in Wasser aufgelöst und die Lösung auf 2 l aufgefüllt.

#### 2N Natriumhydroxyd

#### Apparate

Zur Endpunktsbestimmung der Titration benutzten wir das Photometer Eppendorf ohne Linearisierungsglied mit einem Aufsatz für photometrische Titrations mit einem Magnetrührer der gleichen Firma. Wir arbeiteten mit dem Filter Cd 480 nm. An das Photometer war (wegen der hohen Ausgangsspannung) mittels eines Adapters Type PHA 801 ein Millivoltmeter (Titrator TTT 1) und ein Potentiometerschreiber (Titrigraph) der Fa. Radiometer angeschlossen (Abb. 2).

Titriert wurde mit der automatischen Bürette ABU 1 der gleichen Firma. Der Kolbeninhalt der Bürette betrug 250  $\mu$ l. Als Titrier- und Vergleichsküvetten dienten quadratische Küvetten von 2 cm Schichtdicke und 4 cm Höhe, in denen magnetisch gerührt wurde.

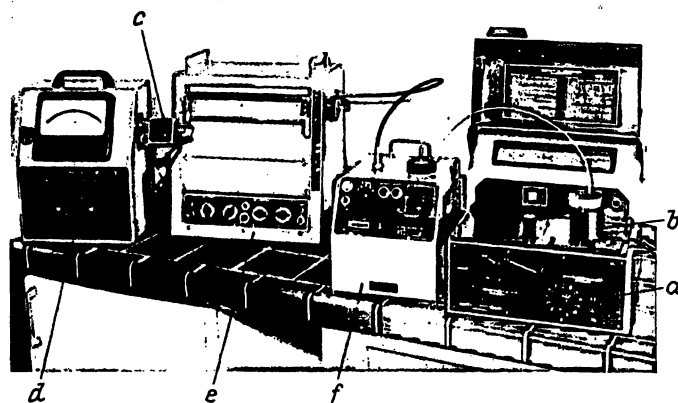


Abb. 2

Apparateanordnung: Photometer Eppendorf (a) mit Aufsatz für photometrische Titrations (b) der gleichen Firma. Der Adapter (c) verbindet das Photometer mit dem Millivoltmeter (d) (Titrator TTT 1), das an den Potentiometerschreiber (e) (Titrigraph) angeschlossen ist. Über die biegsame Welle wird die Feder des Potentiometerschreibers von der Bürette (f) aus angetrieben. Potentiometer und Meßzelle sind gegen ein vorgegebenes Potential in Serie geschaltet, und die Bürette kompensiert die durch den Potentiometerschreiber vorgegebene Spannungsänderung.

#### Durchführung der Messung

Als Vergleichslösung diente eine autitrierte Lösung. In die Vergleichsküvette wurden 8,5 ml dest. Wasser, 2 ml 2N Natriumhydroxydlösung, 0,3 ml Murexidlösung, 100  $\mu$ l Calciumstandardlösung und 200  $\mu$ l EDTA-Lösung pipettiert. Zum Pipettieren von Mikrolitervolumina verwendeten wir Eppendorfpipetten. Die Küvette mit der Vergleichslösung wurde mittels eines 6 mm starken Gummiringes in den Titrieraufsatz eingesetzt und nach kurzem magnetischem Rühren der Nullpunkt am Photometer eingestellt. In die Titriervküvette wurden anschließend 8,5 ml dest. Wasser, 2 ml 2N Natriumhydroxydlösung, 0,3 ml Murexid und 100  $\mu$ l der zu titrierenden Calciumlösung einpipettiert.

Die Vergleichsküvette wurde dann aus dem Titrieraufsatz herausgehoben, die Titriervküvette eingesetzt und die Extinktion der Lösung durch Heraufschalten einer Verstärkerstufe am Photometer in einen gut meßbaren Bereich gebracht. Die Extinktion der Lösung liegt dann etwa zwischen  $E = 0,3-0,4$ . Anschließend wurde mit Hilfe des Adapters der Meßbereich am Millivoltmeter eingestellt. Titriert wurde in Down-Scale mit einer Schreibereichung von  $-10$  mV/cm, einer Kompensation von 100 mV und einem Papiervorschub von 40 mm/Min. Die Titriergewindigkeit wurde auf die Rührgeschwindigkeit abgestimmt. Wir titrierten mit einer mittleren Geschwindigkeit von etwa 0,1 ml Titrierflüssigkeit pro Min. (Speed 2 der Bürette). Zum Rühren verwendeten wir einen relativ kleinen Rührmagneten (etwa 1,5 cm lang) mit Teflonumhüllung. Die Rührung ist ausreichend, die Oberfläche der Lösung aber bleibt ruhig. Mit dieser Anordnung erreichten wir eine sehr ruhige Photometeranzeige, die für eine scharfe Endpunktbestimmung und einen geradlinigen Verlauf der geschriebenen Kurven entscheidend ist.

Ein stets reproduzierbarer Mehrverbrauch an EDTA-Lösung erwies sich als additive Größe und konnte als solche aus der Differenz zweier Titrations von 10 und 15  $\mu$ g  $\text{Ca}^{++}$  bestimmt und als Leerwert abgezogen werden.

#### Ergebnisse und Diskussion

Bei der Titration werden Kurven erhalten, wie sie in Abbildung 3 als Beispiel zu sehen sind.

Die Kurven zeigen einen völlig geradlinigen Verlauf und lassen sich durch Anlegen eines Lineals gut auswerten. Der Schnittpunkt beider Geraden ist der Endpunkt der Titration, von dem noch der Leerwert ab-

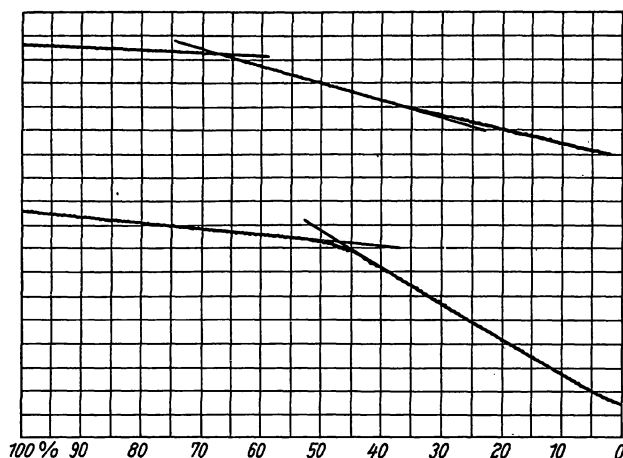


Abb. 3

Titrationkurve: Photometrische Titration von 15 µg (oben) bzw. 10 µg (unten)  $\text{Ca}^{++}$  mit 2,5 mM EDTA-Lösung und Murexid als Indikator

gezogen werden muß. Das Papier des Schreibers ist in Prozent geeicht. 250 µl, der Inhalt der Bürette, entsprechen 100%. 100 µl 2,5 mM EDTA-Lösung (40% auf dem Papier) sind 10 µg  $\text{Ca}^{++}$  äquivalent. Die Eichlösungen enthielten 2–10 mg Calciumionen pro 100 ml, das entspricht 2–10 µg in 100 µl. Um den Fehler der Methode zu ermitteln, wurden für jede Eichlösung mehrere Bestimmungen durchgeführt.

Die Meßergebnisse sind in Tabelle 1 und 2 zusammengestellt. Der maximale Fehler der Einzelbestimmung liegt bei 0,13 µg.

Der mittlere Fehler beträgt im klinisch interessanten Bereich von 6–15 mg/100 ml etwa 1,5%.

Tab. 1

Typische Verteilung der gefundenen Werte um einen vorgegebenen Wert

vorgegeben (µg)	gefunden (µg)	max. Fehler der Bestimmung (µg)
10	10,125 10,125 9,950 10,000 9,875 10,000 10,000 10,000 10,050 10,000	0,13

Tab. 2

Übersicht über den mittleren Fehler der Einzelbestimmung im Bereich von 2–15 µg

vorgegeben (µg)	gefunden Mittelwert (µg)	n	mittlerer Fehler der Einzelbestimmung (%)
2	1,91 ± 0,09	10	4,5
3	2,99 ± 0,1	10	3,33
4	3,95 ± 0,1	10	2,5
6	6,03 ± 0,07	10	1,17
8	8,03 ± 0,07	10	0,875
9	9,05 ± 0,04	10	0,67
10	10,01 ± 0,07	10	0,7
12	12,07 ± 0,07	10	0,58
15	15,01 ± 0,08	10	0,53

### Literatur

1. KRAMER, B. und F. F. TISDALL, J. biol. Chemistry 47, 475 (1921).
2. SCHWARZENBACH, G., W. BIEDERMANN und F. BANGERTER, Helv. chim. Acta 29, 811 (1946).
3. ELLIOTT, W. E., J. biol. Chemistry 197, 641 (1952).
4. FALES, F. W., J. biol. Chemistry 204, 577 (1953).
5. KIBRICK, A. C., M. ROSS und H. E. ROGERS, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 81, 353 (1952).
6. SIEGMUND, P. und H. J. DULCE, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 320, 149 (1960).
7. COPP, D. H., J. Laborat. Clin. Med. (S. Louis) 61, 1029 (1963).
8. WILLIAMS, M. B. und J. H. MOSER, Analytic. Chem. 25, 1414 (1953).
9. CHALMERS, R. A., Analyst 79, 519 (1954).
10. KARSTEN, P., H. L. KIES und H. TH. J. VAN ENGELN, Analytica chim. Acta (Amsterdam) 12, 64 (1955).
11. FORTUIN, J. M. H., P. KARSTEN und H. L. KIES, Analytica chim. Acta (Amsterdam) 10, 356 (1954).

Dipl.-Chem. R. Quicker  
1 Berlin 33, Arnimallee 22

## Flammenphotometrische Lithiumbestimmung im Serum

*Routinemethode zur Überwachung der Lithiumtherapie in der Psychiatrie*

Von P. DOERR und D. STAMM

*Aus dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München*

(Eingegangen am 21. Februar 1968)

Die Lithiumtherapie in der Psychiatrie bedarf der ständigen Kontrolle des Serumspiegels. Dafür wird eine einfache Routinemethode mit dem Eppendorf-Flammenphotometer beschrieben. Die Richtigkeit im Konzentrationsbereich 0,3–4,5 mVal/l ist geprüft, die Präzision beträgt als Variationskoeffizient bis zu 1,6%. Die Störeinflüsse von Natrium, Kalium und Calcium sind geprüft; an der oberen therapeutischen Grenze von 1,8 mVal/l Lithium betragen sie weniger als 1%.

During lithium therapy in psychiatry, the concentration of lithium in the serum must be continually monitored. A suitable routine method with the Eppendorf flame photometer is described.

The maximum error was 1.6% in the concentration range 0.3–4.5 m. eq./l. of lithium. Interference by sodium, potassium and calcium was less than 1% with 1.8 m. eq./l. lithium, which is the upper therapeutic limit for lithium.

Die Behandlung verschiedener psychiatrischer Erkrankungen (1) mit Lithiumsalzen gewinnt zunehmend an Interesse. Wegen der geringen therapeutischen Breite (2) ist eine sorgfältige Überwachung der Patienten nötig. Neben der Beobachtung klinischer

Symptome ist vor allem die Kenntnis des Serumlithiumspiegels wichtig.

LANG und HERRMANN (3) haben eine flammenspektrophotometrische Methode für die Bestimmung der physiologischen Lithiumkonzentration im Serum (0,4